

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 10 月 23 日 (23.10.2003)

PCT

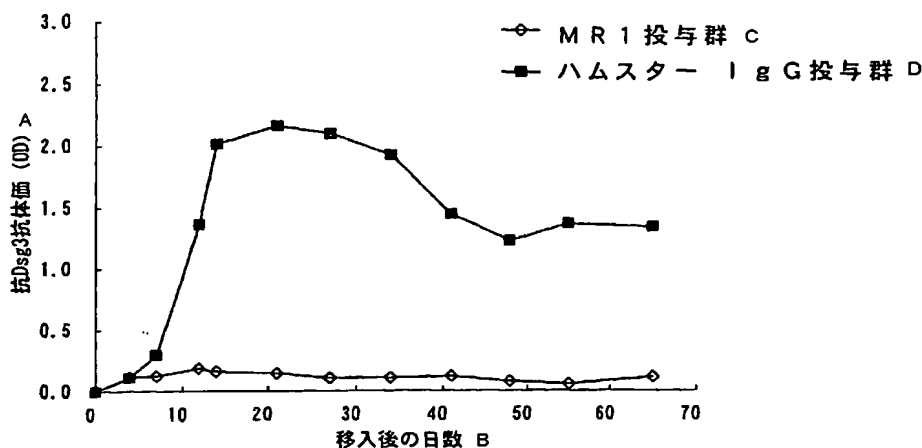
(10) 国際公開番号
WO 03/086463 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A61K 45/00, ザイ株式会社 (EISAI CO., LTD.) [JP/JP]; 〒112-8088 東京都文京区小石川 4 丁目 6 番 1 0 号 Tokyo (JP).
39/395, A61P 17/00, 37/06
- (21) 国際出願番号: PCT/JP03/04219 (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 天谷 雅行 (AM-
(22) 国際出願日: 2003 年 4 月 2 日 (02.04.2003) AGAI, Masayuki) [JP/JP]; 〒160-8582 東京都新宿区信
濃町 3 5 番地 慶應義塾大学医学部内 Tokyo (JP). 西川
(25) 国際出願の言語: 日本語 武二 (NISHIKAWA, Takeji) [JP/JP]; 〒160-8582 東京都
新宿区信濃町 3 5 番地 慶應義塾大学医学部内 Tokyo
(JP).
(26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: (74) 代理人: 廣田 雅紀 (HIROTA, Masanori); 〒107-0052
特願2002-101886 2002 年 4 月 3 日 (03.04.2002) JP 東京都港区赤坂二丁目 8 番 5 号若林ビル 3 階 Tokyo
(JP).
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 学校法
人慶應義塾 (KEIO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒108-8345
東京都港区三田二丁目 1 5 番 4 5 号 Tokyo (JP). エー
(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,

[続葉有]

(54) Title: REMEDIES FOR PEMPHIGUS CONTAINING CD40L ANTAGONIST AS THE ACTIVE INGREDIENT

(54) 発明の名称: CD40L アнтаゴニストを有効成分とする天疱瘡治療剤



A...ANTI-DSG3 ANTIBODY TITER (OD)
B...TIME (DAYS) AFTER TRANSFER
C...MR1-ADMINISTRATION GROUP
D...HAMSTER IGG-ADMINISTRATION GROUP

(57) Abstract: It is intended to develop remedies for treating pemphigus by administering a CD40L antagonist to a patient suffering from pemphigus such as pemphigus vulgaris or pemphigus foliaceus, and preventives for preventing the onset of pemphigus by administering a CD40L antagonist preventively. CD40L antagonists such as an anti-CD40L antibody, which inhibits the interaction between a receptor CD40L mediating the adhesion-dependent helper effector function on T cell surface and a receptor CD40 on antigen-presenting cell surface, are efficacious as remedies and preventives for pemphigus.

(57) 要約: 尋常性天疱瘡や落葉状天疱瘡等の天疱瘡を発症した患者に対しCD40L アнтаゴニストを投与して、天疱瘡を治療する治療剤、及びCD40L アнтаゴニストを予防的

[続葉有]



DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

に投与して、天疱瘡の発症を予防する予防剤を開発するものである。T細胞表面上の接触依存性のヘルパーエフェクター機能を媒体する受容体CD40Lと、抗原呈示細胞表面上の受容体CD40の間の相互作用を阻害する抗CD40L抗体等のアンタゴニストが天疱瘡治療剤、及び天疱瘡予防剤として有効であった。

明 細 書

CD40Lアンタゴニストを有効成分とする天疱瘡治療剤

5 技術分野

本発明は、天疱瘡を発症した患者に対し、CD40Lアンタゴニストを投与し天疱瘡を治療する治療剤、及び天疱瘡の再燃が予想される患者に対し、CD40Lアンタゴニストを予防的に投与し天疱瘡の発症を予防する予防剤に関する。

10

背景技術

天疱瘡は、デスモゾームに存在するカドヘリン型の細胞接着因子であるデスモグレイン(Dsg)に対する自己抗体により誘導されることが解明されている(Amagai, M. et al., Cell, 67, 869-877, 1991)。Dsg
15 には、Dsg1, Dsg2, Dsg3のアイソタイプが存在するが、Dsg2が単層上皮・心臓などを含めたデスモゾームを有する全ての組織に発現しているのに対し、Dsg1とDsg3は重層扁平上皮のみに発現が認められる。

天疱瘡は尋常性天疱瘡(pemphigus vulgaris: PV)と落葉状天疱瘡
20 (pemphigus foliaceus: PF)に大別され、PVは更に粘膜が主に侵される粘膜優位型と、粘膜のみならず皮膚まで広範囲に病変が認められる粘膜皮膚型とに分類される。抗Dsg3抗体が陽性の患者では粘膜優位型PV、Dsg1抗体が陽性の患者ではPF、抗Dsg1抗体・抗Dsg3抗体が共に陽性の患者では粘膜皮膚型PFとして臨床型が現れる
25 (天谷ら、実験医学 Vol.19 No.5 (増刊) 2001)。

天疱瘡の治療は、非特異的な免疫抑制剤、多くはステロイド剤により

なされているが、抗原と臨床症状の関連が明確となっている天疱瘡においては、より特異的な免疫抑制療法が求められた。

本発明の課題は、ヒトグリオーマ等の癌の診断や治療に有用な癌抑制遺伝子あるいは癌遺伝子を同定し、ヒトグリオーマ等の癌の診断方法や
5 診断薬、ヒトグリオーマ等の癌の治療方法や治療薬を提供することにある。

他方、分子レベルでクローニングされている細胞表面分子CD40は未成熟および成熟Bリンパ球の表面上で同定されており、抗体と結合したときにB細胞の増殖を誘導することが知られている（Eur. J.
10 Immunol., 19, 1463-1467, 1989、J. Immunol., 140, 1425-1430, 1988、J. Immunol., 142, 4144-4152, 1989）。また、CD40のリガンドであるCD40Lもまた分子レベルでクローニングされており（Nature, 357,
80-82, 1992、J. Exp. Med., 175, 1091-1101, 1992、EMBO J., 11,
4313-4319, 1992）、CD40L遺伝子でトランスフェクトされ細胞表面
15 上にCD40Lタンパク質を発現する細胞はB細胞の増殖を誘導することができ、他のシグナル系とともに抗体の産生を誘導することができることも知られている（Nature, 357, 80-82, 1992）。そして、B細胞の活性化を阻害して液性免疫を抑制するため、B細胞を活性化するT細胞上のCD40LとB細胞上のCD40との間のインビボ相互作用を阻害す
20 るアンタゴニスト、例えば抗CD40L抗体を投与して、液性免疫を抑制することも知られている（特許第2840131号、特許第3007977号、第2974415号、第2991499号）。しかし、かかる免疫抑制方法が自己免疫疾患である天疱瘡に有効であることは知られておらず、確認もされていなかった。

25 本発明の課題は、天疱瘡を発症した患者に対しCD40Lアンタゴニストを投与して、天疱瘡を治療する治療剤、及びCD40Lアンタゴニ

ストを予防的に投与して、天疱瘡の発症を予防する予防剤を開発することにある。

発明の開示

- 5 本発明者らは、P V 抗原であるD s g 3に対する抗体産生を誘導し、天疱瘡を発症するモデル動物を作製することを試みた。しかし野生型マウスに免疫したのでは、D s g 3に対する免疫寛容が成立しているため、持続的にD s g 3に対する抗体を産生させることが難しかった。そこで、D s g 3に対する免疫寛容が成立していないD s g 3ノックアウトマウスD s g 3^{-/-}を組換えD s g 3で免疫し、その脾細胞を成熟したT及びB細胞を持たない免疫不全マウスR a g 2^{-/-}に移植した（Amagai M., et al., J. Clin. Invest., 105, 625-631, 2000）。

- 10 移植後4～7日後に、移植したマウスの血中にD s g 3に対するI g G抗体の産生が認められ、抗体産生は6ヶ月以上に亘り持続した。そしてマウスの皮膚・口腔粘膜・食道などの重層扁平上皮の細胞膜にはD s g 3抗体の沈着が確認され、更に表皮および粘膜上皮の細胞間接着が障害されて、天疱瘡に特徴的な基底層直上での裂隙形成が、口腔粘膜・食道上部に認められた。作製されたマウスは、臨床的・病理学的・免疫学的に天疱瘡の特徴的な所見を有するモデルマウスであると結論された。
- 20 （D s g 3で免疫していないD s g 3^{-/-}マウス脾臓細胞でも天疱瘡を発症することを確認している。）

- 25 本発明者は、本天疱瘡病態モデルマウスにC D 4 0 Lアンタゴニスト、抗C D 4 0 L抗体を予防的に投与することにより抗D s g 3抗体産生を完全に抑制し、天疱瘡に伴う表皮及び粘膜病変を防止できることを見出した。更に、発症後に抗C D 4 0 L抗体を投与した場合にも、抗D s g 3抗体産生の抑制に効果を示し、一部のマウスでは表現型も改善される

ことが明らかとなり、CD40Lアンタゴニストを天疱瘡治療剤及び予防剤として使用するという本発明を完成するに到った。

T細胞表面上の接触依存性のヘルパーエフェクター機能を媒体する受容体CD40Lと、抗原提示細胞表面上の受容体CD40との間の相互作用を阻害する薬剤は、進行中の免疫反応に抗原特異的に免疫寛容を誘導できることから、非特異的な免疫抑制剤に代わる、天疱瘡の根本的治療薬となることが予想される。

すなわち本発明は、T細胞表面上の接触依存性のヘルパーエフェクター機能を媒体する受容体CD40Lと、抗原提示細胞表面上の受容体CD40との間の相互作用を阻害する薬剤を有効成分とする天疱瘡治療剤、及び、T細胞表面上の接触依存性のヘルパーエフェクター機能を媒体する受容体CD40Lと、抗原提示細胞表面上の受容体CD40との間の相互作用を阻害する薬剤を有効成分とする天疱瘡予防剤を提供する。相互作用を阻害する薬剤は、好ましくは抗CD40L抗体である。

また本発明は、T細胞表面上の接触依存性のヘルパーエフェクター機能を媒体する受容体CD40Lと、抗原提示細胞表面上の受容体CD40との間の相互作用を阻害する薬剤を、天疱瘡患者に投与することを特徴とする天疱瘡の治療方法、及び、T細胞表面上の接触依存性のヘルパーエフェクター機能を媒体する受容体CD40Lと、抗原提示細胞表面上の受容体CD40との間の相互作用を阻害する薬剤を天疱瘡発症の可能性のある患者に投与することを特徴とする天疱瘡の予防方法を提供する。相互作用を阻害する薬剤は、好ましくは抗CD40L抗体である。

さらに本発明は、天疱瘡治療剤の製造における、T細胞表面上の接触依存性のヘルパーエフェクター機能を媒体する受容体CD40Lと、抗原提示細胞表面上の受容体CD40との間の相互作用を阻害する薬剤の使用を提供する。相互作用を阻害する薬剤は、好ましくは抗CD40L

抗体である。

図面の簡単な説明

第1図、MR1抗体投与による天疱瘡の予防効果を示す図である。

5 第2図は、MR1抗体投与による天疱瘡の治療効果を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

本発明の種々の側面を以下の項目について詳細に説明する。

1. CD40Lアンタゴニスト：T細胞表面上の接触依存性のヘルパーエフェクター機能を媒体する受容体CD40Lと、抗原提示細胞表面上の受容体CD40との間の相互作用を阻害する薬剤をCD40Lアンタゴニストと定義する。CD40Lアンタゴニストには、CD40Lと相互作用する薬剤のみならず、CD40と相互作用する薬剤も含まれるものである。CD40LアンタゴニストはCD40Lに対して向けられた抗体（例えばCD40Lに対するモノクローナル抗体）、CD40Lに対して向けられた抗体のフラグメント（例えばFab又は $(Fab')_2$ フラグメント）、キメラ抗体又はヒト化抗体、可溶性（soluble）CD40又は可溶性CD40L及びそれらのフラグメント、又はその他のCD40LとCD40との相互作用を阻害する化合物であってよい。
- 10
- 15
- 20
- 25
- CD40Lアゴニストの、CD40LとCD40との相互作用を阻害する性質は、例えば、標識可溶性CD40の活性化ヘルパーT細胞への結合を抑制するか否かにより判定することができる。標識可溶性CD40は、可溶性CD40を、例えば特開平6-220096号公報の実施例1の方法により作製し、適当な標識物質、例えば蛍光物質、放射性同位元素等により標識することにより調整できる。標識可溶性CD40の活性化ヘルパーT細胞への結合の評価は、例えば蛍光標識した可溶性C

D 4 0 を用いて、F A C S により行うことができる。

2. 抗 C D 4 0 L 抗体：哺乳動物（例えばマウス、ハムスター又はウサギ）は、該哺乳動物において免疫応答を引き起こす免疫原の形態の C D 4 0 L 蛋白質又は蛋白質断片（例えばペプチド断片）で免疫することが
5 できる。

C D 4 0 L 蛋白質は C D 4 0 L c D N A （Armitage et al., Nature, 357, 80-82, 1992、Hollembaugh et al., EMBO J., 11, 4313-4319, 1992）を組み込んだ発現ベクターを宿主細胞、例えば細菌又は哺乳類細胞株中で発現させ、培養液から標準的な方法に従って C D 4 0 L 蛋白質
10 を精製することができる。また、例えば G S T 等との融合蛋白質として発現させ、G S T との融合蛋白質の場合はグルタチオンカラムにより精製しても構わない。C D 4 0 L ペプチドは C D 4 0 L のアミノ酸配列
（Armitage et al., Nature, 357, 80-82, 1992、Hollembaugh et al., EMBO J., 11, 4313-4319, 1992）に基づき、公知の方法（例えば、F-moc
15 又は T-boc 化学合成）により合成することができ、合成されたペプチドは適当な担体、例えば K L H と結合させることで免疫原性を高めることも許される。

精製された C D 4 0 L 蛋白質又はペプチド断片をアジュバントと共に免疫後、抗血清を得ることができ、所望なら抗血清からポリクローナル
20 抗体を単離することができる。また、モノクローナル抗体を産生するには、抗体産生細胞（リンパ球）を免疫動物より回収し、標準的な細胞融合法によりミエローマ細胞と融合させて細胞を不死化し、ハイブリドーマ細胞を得る。かかる技術は当該技術分野では確立された方法であり、
適当なマニュアル（Harlow et al, Antibodies: A Laboratory Manual, 25 1998, Cold Spring Harbor Laboratory）に準じて行うことができる。更に、モノクローナル抗体はヒトモノクローナル抗体を産生するためのヒ

ト B 細胞ハイブリドーマ法 (Kozbar et al., Immunol. Today, 4, 72, 1983)、EBV-ハイブリドーマ法 (Cole et al., Monoclonal Antibody in Cancer Therapy, 1985, Allen R. Bliss, Inc., pages 77-96)、コンビナトリアル抗体ライブラリーのスクリーニング (Huse et al., Science, 246, 1275, 1989) 等他の方法により作製しても良い。

本明細書における抗体は、CD40L と特異的に結合する抗体のフラグメント、例えば Fab または (Fab')₂ フラグメントをも包含するものである。

ヒト以外の動物、例えばマウスを免疫動物として作製されたマウスモノクローナル抗体は、ヒトに投与した場合異種蛋白質として認識されて、モノクローナル抗体に対する免疫応答を生じさせてしまうことが多い。この問題点を回避する一つの方法はキメラ抗体、すなわち抗原結合領域がマウスモノクローナル抗体由来、それ以外の領域がヒト抗体由来の抗体である。本発明における抗体はキメラ抗体も含むものである。キメラ抗体としては、抗原結合領域としてマウスモノクローナル抗体の可変領域全体を使ったキメラ抗体 (Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 6851, 1985、Takeda et al., Nature, 314, 452, 1985)、また抗原結合領域としてヒト由来のフレームワーク領域とマウスモノクローナル抗体由来の超可変領域を組み合わせて使ったキメラ抗体 (Teng et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 7308-12, 1983、Kozbar et al., Immunol. Today, 4, 7279, 1983) が挙げられるが、本発明はこれに限定されるものではない。

本発明の天疱瘡治療剤は、天疱瘡の患者に投与できる。また、本発明の天疱瘡予防剤は、天疱瘡の発症の予防のために、天疱瘡の発症が予想される患者に対して投与できる。

本発明の天疱瘡治療剤及び天疱瘡予防剤の投与は、注射 (皮下、静脈

など) など常法により行うことができる。

天疱瘡治療剤及び天疱瘡予防剤の形態は、投与方法により適宜選択され、例えば、注射用途に適した医薬組成物としては、滅菌水溶液（水溶性の場合）または分散液および滅菌注射溶液または分散液を即座に調整

- 5 するための滅菌粉末を挙げることができる。注射用途に適した医薬組成物はいずれの場合においても滅菌されていなければならず、容易な注射器操作が可能な程度に流体でなければならない。該組成物は製造及び貯蔵条件下で安定でなければならず、細菌や真菌などの混入微生物の作用から保護されていなければならぬ。担体は、例えば、水、エタノール、
- 10 ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及びポリエチレングリコールなど）、およびこれらの適当な混合物を含む媒体であるかあるいは分散媒体であってよい。適当な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングをしようすることによって、分散液の場合は必要な粒径を維持することによって、および界面活性剤を使用することによって維持することができる。微生物の作用からの保護は、種々の抗菌剤
- 15 及び抗真菌剤、たとえばパラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどにより行うことができる。多くの場合等張剤、例えば糖、ポリアルコール、例えばマンニトール、ソルビトール、塩化ナトリウムなどが組成物中に含まれているのが好ましいであろう。注射用組成物の持続吸収は、吸収を遅らせる薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウムやゼラチンなどを組成物中に配合することにより行うことができる。
- 20

- 注射用溶液の調整は、必要なら上記成分の 1 またはその組合せとともに所要量の活性化化合物（CD40L アントゴニスト等）を適当な溶媒中に配合し、ついで滅菌濾過することにより行うことができる。一般に分散液の調整は、基本的な分散媒体と上記から選ばれた必要な他の成分を
- 25

含む滅菌媒体中に活性化合物を配合することにより行う。滅菌注射溶液調整のための滅菌粉末の場合は、好ましい調整法は真空乾燥及び凍結乾燥であり、これにより活性成分と前もって滅菌濾過した所望の追加成分との粉末が得られる。

- 5 天疱瘡治療剤の投与量は、天疱瘡を治療するのに十分な量であり、患者の年齢、性差、薬剤に関する感受性、投与方法、疾患の履歴などにより変化し得る。また天疱瘡予防剤の投与量は、天疱瘡を予防するのに十分な量であり、患者の年齢、性差、薬剤に関する感受性、投与方法、疾患の履歴などにより変化し得る。

10

本発明を下記実施例により更に詳しく説明するが、本発明はこれに限られるものではない。

- 以下の実施例で使用した抗CD40L抗体MR1 (Noelle et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 6550-54, 1992) は、ハムスターで作製したマウスCD40Lに対するモノクローナル抗体でPharMingen社より入手可能 (Catalog No.: PM-09020D or PM-09021D) である。またMR1産生細胞は、American Type Culture Collection (ATCC) より入手可能である (ATCC No.: HB-11048)。
- 15

- 使用したDsg3^{-/-}マウスはThe Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine, USAより、Rag2^{-/-}マウスはTaconic Farms, Germantown, New York, USAより入手可能である。
- 20

- また実施例中で組換えDsg3 (rDsg3) は、マウスDsg3 (GenBank U86016) の細胞外ドメインを配列番号1及び2に記載の配列のプライマーを用いたPCRにより増幅し、Amagai M., et al., J. Clin. Invest., 94, 59-67, 1994 に記載の方法に従って作製した。抗体価は、Amagai M., et al., J. Clin. Invest., 105, 625-631, 2000 に記載されたE
- 25

L I S A 法により測定した。

[実施例 1] 天疱瘡病態モデルマウスの作製

Amagai らの方法 (Amagai M., et al., J. Clin. Invest., 105, 625-631, 2000) に準じて、天疱瘡病態モデルマウスを作製した。

- 5 r D s g 3 で免疫した D s g 3^{-/-}マウスをエーテル麻酔下で屠殺し脾臓を摘出した。脾臓細胞を無菌的に調整し、 $1 \times 10^8 / \text{ml}$ に P B S に懸濁後、0.5 ml (細胞数として 5×10^7 個) を R a g 2^{-/-}マウス尾静脈に静脈内投与した。

- 10 移植後 4 ~ 7 日後に、移植したマウスの血中に D s g 3 に対する I g G 抗体の産生が認められ、抗体産生は 6 ヶ月以上に亘り持続した。そしてマウスの皮膚・口腔粘膜・食道などの重層扁平上皮の細胞膜には D s g 3 抗体の沈着が確認され、更に表皮および粘膜上皮の細胞間接着が障害されて、天疱瘡に特徴的な基底層直上での裂隙形成が、口腔粘膜・食道上部に認められた。

15 [実施例 2] M R 1 抗体投与による天疱瘡の予防効果

M R 1 抗体を予防的に投与し、D s g 3 に対する免疫応答が惹起される時に C D 4 0 L を存在させた場合、移入した脾臓細胞に D s g 3 に対して免疫寛容が誘導できるかどうかを検討した。

- 20 D s g 3^{-/-}マウス脾細胞移植の 2 日前および移植後 0、2、4、7 日に M R 1 抗体とコントロールハムスター I g G を $500 \mu\text{g}$ ずつレシピエントマウス (R a g 2^{-/-}マウス) の腹腔内に投与した ($n = 5$)。

- 25 移植 14 日後にコントロール群では抗 D s g 3 抗体産生を確認したが、M R 1 を投与したマウスでは、66 日間の観察期間を通じて明らかな抗体産生および表現型を全く認めなかった (図 1)。またコントロール群では体重減少、休止期脱毛および病理組織学的に P V に特徴的な基底層直上の棘融解を認めたが、M R 1 を投与群では、体重減少は見られず、P

Vの症状も観察されなかった。MR-1抗体には、明らかなPV予防効果が見られた。

〔実施例3〕MR1抗体投与による天疱瘡の治療効果

Dsg3^{-/-}マウスの脾臓細胞を導入し、Dsg3^{-/-}に対する抗体
5 を産生してPVの発症が見られるマウスに対して、MR-1抗体を投与し、治療効果が見られるかどうかを検討した。

免疫していないDsg3^{-/-}マウスの脾臓細胞を導入したレシピエントマウス(Rag2^{-/-}マウス)に、MR1とハムスターIgGを、脾臓細胞移植後7週間後から、1mgずつ週2回6週間に亘り計12回投
10 与した(n=10)。通常の抗体価の変動をみるために無治療のPVモデルマウスも同時に観察した(n=5)。

投与開始後、0、2、4及び6週目に採血し、Dsg3に対する抗体価を測定した。投与前に抗体価が高く(>2000倍の抗体 titer を示すマウス)、投与中に死亡してしまったマウスを除き、更に治療効果の見
15 込めない投与前から抗体価が低かったマウス(<100倍の抗体 titer を示すマウス)を除いて統計処理した。図2に示す通り、MR1抗体投与群では、投与前の30%まで抗体価が低下したが、コントロール群には抗体価の低下が見られなかった。この間、一部のマウスではPVの改善が認められたが、両群の間で、PVの症状に有意な差は観察されな
20 かった。

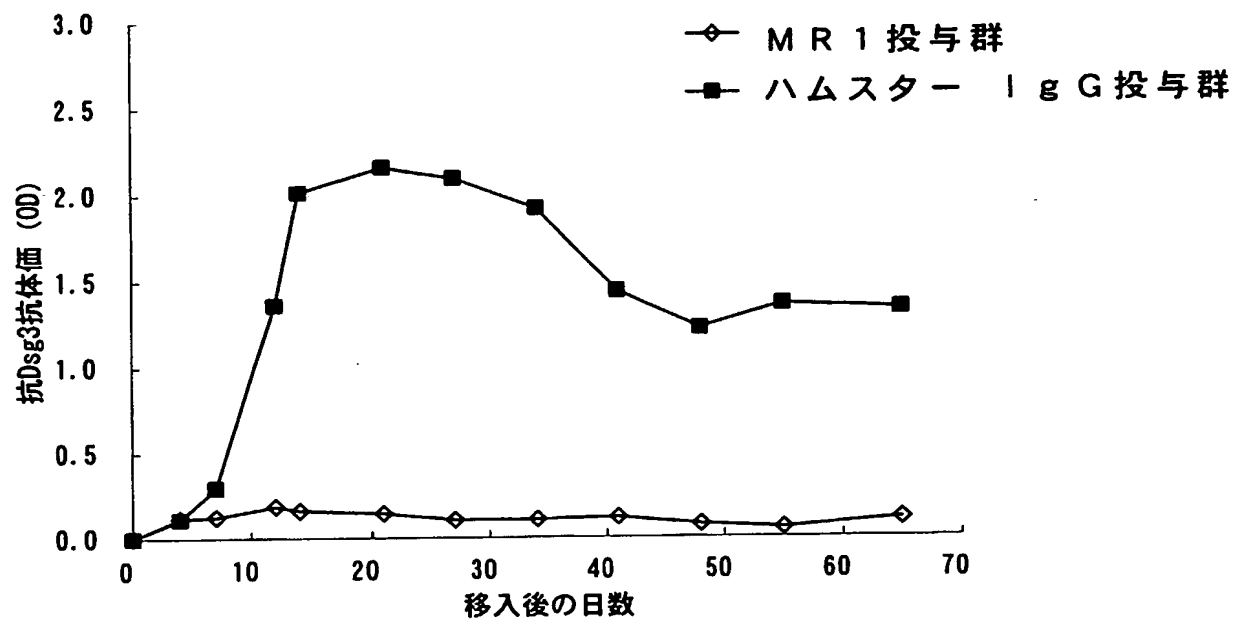
産業上の利用可能性

g39アンタゴニストの投与により、抗Dsg抗体の産生が抑制され、天疱瘡に伴う表皮及び粘膜病変が改善されていることが確認されて、C
25 D40Lアンタゴニストが天疱瘡の根本的な治療剤及び予防剤となりうることを示された。

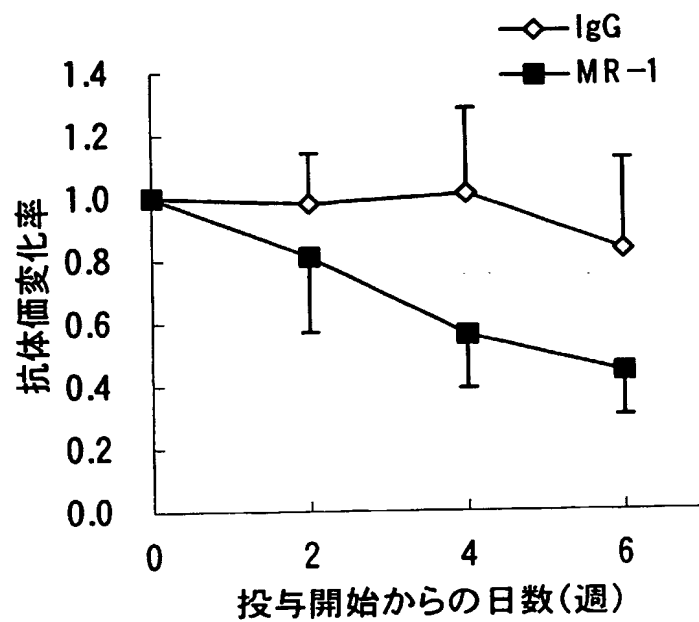
請 求 の 範 囲

1. T細胞表面上の接触依存性のヘルパーエフェクター機能を媒体する受容体CD40Lと、抗原提示細胞表面上の受容体CD40の間の相互作用を阻害するアンタゴニストを有効成分とする天疱瘡治療剤。
- 5
2. 相互作用を阻害するアンタゴニストが、抗CD40L抗体である請求項1に記載の天疱瘡治療剤。
3. T細胞表面上の接触依存性のヘルパーエフェクター機能を媒体する受容体CD40Lと、抗原提示細胞表面上の受容体CD40の間の相互作用を阻害するアンタゴニストを有効成分とする天疱瘡予防剤。
- 10
4. 相互作用を阻害するアンタゴニストが、抗CD40L抗体である請求項3に記載の天疱瘡予防剤。

第 1 図



第 2 図



SEQUENCE LISTING

<110> KEIO UNIVERSITY

EISAI CO., LTD.

<120> THERAPEUTIC AGENT FOR PERMPHIGUS COMPRISING CD40L ANTAGONIST AS AN
ACTIVE INGREDIENT

<130> 2003C1593

<150> JP 2002-101886

<151> 2002-04-03

<160> 2

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> NO. 1

<400> 1

ccgagatctc ctataaatal gacctgccctc ttccclaga

39

<210> 2

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> NO. 2

<400> 2

cgggicgacc ctccaggaig actccccata

30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/04219

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K45/00, 39/395, A61P17/00, 37/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K45/00, 39/395, A61P17/00, 37/06

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/015733 A2 (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.), 08 March, 2001 (08.03.01), Full text & AU 200073385 A & EP 1218064 A2 & JP 2003-508448 A	1-4
X	JP 11-505107 A (Abujenikkusu Inc.), 18 May, 1999 (18.05.99), Full text; particularly, Claims 32, 44; page 25, line 18 to page 26, line 9 & WO 96/34096 A1 & AU 9524668 A & EP 8230941 A1 & AU 200053361 A	1-4

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
12 June, 2003 (12.06.03)Date of mailing of the international search report
24 June, 2003 (24.06.03)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/04219

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 95/06481 A1 (Trustees of Dartmouth College), 09 March, 1995 (09.03.95), Full text & AU 678532 B & JP 3007977 B & EP 721346 B1 & US 2002/0187135 A1	1-4

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K 45/00, 39/395, A61P 17/00, 37/06

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K 45/00, 39/395, A61P 17/00, 37/06

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 01/015733 A2 (ベーリンガー インゲルハイム ファーマシューティカルズ インコーポレイテッド) 2001. 03. 08, 全文 &AU 200073385 A &EP 1218064 A2 &JP 2003-508448 A	1-4
X	JP 11-505107 A (アプジェニックス インク.) 1999. 05. 18, 全文、特に、請求の範囲32、44、及 び、25頁第18行~26頁第9行参照 &WO 96/34096 A1 &AU 9524668 A	1-4

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

12.06.03

国際調査報告の発送日

24.06.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

八原 由美子



4C

9261

電話番号 03-3581-1101 内線 3451

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	&EP 8230941 A1 &AU 200053361 A WO 95/06481 A1 (トラスティーズ・オブ・ダートマ ス・カレッジ) 1995. 03. 09, 全文 &AU 678532 B &JP 3007977 B &EP 721346 B1 &US 2002/0187135 A1	1-4